

基于网络药理学分子对接技术探索展筋活血散治疗软组织损伤的作用机制

刘旭, 李哲, 王磊磊, 宋兴华*

新疆医科大学第六附属医院 脊柱外三科, 新疆 乌鲁木齐 830002

摘要: **目的** 网络药理学结合分子对接技术探索展筋活血散治疗软组织损伤的分子调控机制, 为展筋活血散的临床使用提供数据支撑。**方法** 运用 TCMSP、ETCM、BATMAN-TCM 数据库收集展筋活血散成分和靶点, 同时 GeneCards 和 OMIM 数据库获取软组织损伤的靶点。将成分与疾病靶点取交集获得展筋活血散治疗软组织损伤主要成分和靶点, 采用 Cytoscape 软件构建展筋活血散治疗软组织损伤的活性成分和交集靶点网络图。STRING 数据库构建交集靶点的蛋白相互作用 (PPI) 网络图, 微生信和欧易云平台用于开展基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析。采用分子对接技术验证展筋活血散治疗软组织损伤的关键成分和靶点的结合强弱。**结果** 本研究筛选出展筋活血散 40 种活性成分 (人参皂苷 Rh₂、血竭素、大豆黄素、槲皮素、山柰酚、黄柏苷和阿魏酸松柏酯等), 靶向软组织损伤的 48 个靶点 [免疫炎症因子白细胞介素 (IL)-3、IL-4、IL-6、Toll 样受体 4 (TLR4)、肿瘤坏死因子 (TNF)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2), 血管新生因子血管内皮生长因子 A (VEGFA)、一氧化氮合成酶 3 (NOS3) 和血红素加氧酶 1 (HMOX1), 凋亡因子半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (CASP3)、CASP8, 激素调控因子雌激素受体 1 (ESR1) 等], 参与低氧诱导因子-1 (HIF-1)、磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K) /蛋白激酶 B1 (Akt)、IL-17、TNF 和甲状腺激素信号通路等 15 条通路。分子对接证实展筋活血散的活性成分与其对应的软组织损伤靶点结合力较强。**结论** 展筋活血散通过人参皂苷 Rh₂、血竭素、大豆黄素、槲皮素、山柰酚、黄柏苷和阿魏酸松柏酯等活性成分靶向 IL-6、TLR4、TNF、CASP3、VEGFA 和 ESR1 等关键靶点发挥治疗软组织损伤的功效。

关键词: 展筋活血散; 软组织损伤; 网络药理学; 分子对接; 人参皂苷 Rh₂; 血竭素

中图分类号: R982 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)09-2254-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.09.007

Mechanism of Zhanjin Huoxue Powder in treatment of soft tissue injury based on network pharmacology combined with molecular docking technology

LIU Xu, LI Zhe, WANG Leilei, SONG Xinghua

Department of Spinal Surgery, The Sixth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830002, China

Abstract: Objective The molecular regulatory mechanism of Zhanjin Huoxue Powder in treatment of soft tissue injury was initially explored by network pharmacology combined with molecular dock technology, which provided data support for the clinical use of Zhanjin Huoxue Powder. **Methods** TCMSP, ETCM and BATMAN-TCM databases were used to collect the components and targets of Zhanjin Huoxue Powder, while GeneCards and OMIM databases were used to obtain the targets of soft tissue injury. The main components and targets of Zhanjin Huoxue Powder in treatment of soft tissue injury were obtained by intersection of components and disease targets. The active components and intersection target network of Zhanjin Huoxue Powder for the treatment of soft tissue injury were constructed by Cytoscape software. The PPI network map of intersecting targets was constructed in STRING database, which was used for gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis by Weisheng and Ouyi Cloud platforms. Molecular docking technology was used to verify the combination strength of key components and targets of Zhanjin Huoxue Powder in treatment of soft tissue injury. **Results** In this study, 40 active components of Zhanjin Huoxue Powder (ginsenoside Rh₂, dracorhodin, daidzein, quercetin, kaempferol, phellamurin and coniferyl ferulate) were screened for 48 targets (immunoinflammatory cytokines IL-3, IL-4, IL-6, TLR4, TNF, and PTGS2; angiogenesis factors VEGFA, NOS3, and HMOX1; apoptosis

收稿日期: 2024-07-02

基金项目: 新疆维吾尔自治区卫生健康适宜技术推广项目 (SYTG-Y202423)

作者简介: 刘旭, 男, 硕士, 主治医师, 从事脊柱外科疾病的诊治, E-mail: 36231875@qq.com

*通信作者: 宋兴华, 博士, 主任医师, 博士生导师, 从事脊柱外科疾病的诊治, E-mail: sxhlfy@126.com

factors CASP3, CASP8; hormone regulatory factors ESR1) and HIF-1, PI3K/Akt, IL-17, TNF, and 15 thyroid hormone signaling pathways involved in soft tissue injury. Molecular docking proved that the active components of Zhanjin Huoxue Powder had strong binding force with the corresponding soft tissue injury targets. **Conclusion** Zhanjin Huoxue Powder can treat soft tissue injury by targeting key targets IL-6, TLR4, TNF, CASP3, VEGFA, and ESR1 through ginsenoside Rh₂, dracorhodin, daidzein, quercetin, kaempferol, phellamurin, and coniferyl ferulate.

Key words: Zhanjin Huoxue Powder; Soft tissue injury; network pharmacology; molecular docking; ginsenoside Rh₂; dracorhodin

当组织超载时,其内应力超过其承载负荷的能力而不损坏,从而导致损伤。四肢、髌骨盆、颈部和面部等都是人体软组织容易发生损伤的部位。其中患病率较高的为踝关节外侧扭伤,且与长期并发症慢性踝关节不稳定有关。软组织损伤的康复很复杂,除了急性期管理,还有组织愈合的亚急性和慢性阶段。软组织损伤常伴随着免疫炎症反应、细胞凋亡、组织水肿、血管内皮细胞损伤、细胞外基质和胶原水平的降低等过程^[1]。中医一般认为软组织损伤由血瘀引起,目前研究发现,中药及其复方制剂在软组织损伤治疗中有关键的作用^[2-3]。

展筋活血散由 10 味中药组成,包括血竭、三七、乳香、没药、琥珀、麝香、人参、当归、牛黄和珍珠粉^[4]。基础及临床研究均证明展筋活血散可减轻软组织损伤,改善多项血液流变学指标,缓解老年性软组织损伤的疼痛症状^[5-6]。本研究中拟结合网络药理学和分子对接技术筛选展筋活血散治疗软组织损伤的活性成分、核心靶点和参与通路,揭示展筋活血散治疗软组织损伤的分子调控机制,以期促进软组织损伤的治疗。

1 材料与方法

1.1 展筋活血散活性成分和靶点筛选

采用 TCMSP (<http://tcmispw.com/>)、ETCM (<http://www.tcmip.cn/ETCM2/front/#/>) 和 BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/>) 数据库收集展筋活血散的活性成分。根据外用制剂经皮吸收的特点,以相对分子质量 < 3 000, 1 < lgP (或 AlgP) < 5, 类药性 (DL) ≥ 0.18 或符合 Lipinski 类药性五原则为标准筛选展筋活血散活性成分。采用 Uniprot (<https://www.uniprot.org/>) 对成分靶点进行标准化。将在 3 个数据库中活性成分对应的靶点作为展筋活血散成分候选靶点。

1.2 软组织损伤靶点的收集

在 GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 和 OMIM (<https://www.omim.org/>) 数据库搜索“soft tissue injury”来获取软组织损伤的靶点。取 2 个数据库靶点交集作为软组织损伤的最终靶点。

1.3 展筋活血散治疗软组织损伤核心成分和靶点筛选

将上述步骤获得的展筋活血散成分靶点和软组织损伤疾病靶点取交集,采用 Cytoscape 软件构建展筋活血散治疗软组织损伤核心成分和靶点的网络图。在 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>) 构建核心靶点的蛋白相互作用 (PPI) 网络图,并采用 R 软件统计靶点 degree 值。

1.4 基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析

采用微生信平台 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>) 和欧易云平台 (<https://cloud.oebiotech.com/task/>) 分别进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析,获得展筋活血散治疗软组织损伤核心靶点相关的生物过程 (BP)、细胞成分 (CC)、分子功能 (MF) 和通路。以 $P < 0.05$ 筛选的 GO 和 KEGG 条目,绘制前 30 条 GO 条目的条形图和前 15 条 KEGG 条目的气泡图。进一步筛选将参与通路调控的靶点作为展筋活血散治疗软组织损伤核心靶点,采用 Cytoscape 软件构建成分、靶点和通路的网路图。

1.5 核心成分与靶点分子对接分析

采用 MOE 软件对上述展筋活血散治疗软组织损伤成分、靶点和通路的网路图中的核心成分和靶点进行分子对接,以验证其结合强弱。将核心成分和靶点分别上传至 PubChem 和 PDB 数据库获取其 3D 结构。将核心靶点进行删除水分子和质子化后,分别与其网络图中对应的活性成分进行对接。随后收集展筋活血散治疗软组织损伤成分与靶点对接的结合能,结果采用热图展示。同时获取成分与靶点对接的二维和三维结构图。

2 结果

2.1 展筋活血散活性成分和靶点

采用 3 个数据库共获得展筋活血散活性成分 73 个,主要包括人参皂苷 Rh₂、人参皂苷 Rf、原人参三醇、血竭素、去甲血竭素、大豆黄素、氧化因香酚、黄柏苷、鞣花酸、鹅去氧胆酸、阿魏酸松柏酯等,展筋活血散活性成分涉及的靶点 643 个。

2.2 展筋活血散治疗软组织损伤核心成分和靶点

分别从 GeneCards 和 OMIM 数据库获得软组织损伤靶点 5 514、905 个, 将 2 个数据库取交集获得软组织损伤靶点 436 个。将展筋活血散的 643 个靶点与软组织损伤 436 个靶点取交集, 获得展筋活血散治疗软组织损伤的靶点 80 个 (图 1), 包括蛋白激酶 B1 (Akt1)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (CASP3)、白细胞介素 (IL) -10、雌激素受体 1 (ESR1)、肿瘤坏死因子 (TNF) 和内皮一氧化氮合成酶 (NOS3) 等; 涉及 40 种活性成分, 包括人参皂苷 Rh₂、人参皂苷 Rf、原人参三醇、血竭素、大豆黄素、鞣花酸、鹅去氧胆酸和阿魏酸松柏酯等。展筋活血散治疗软组织损伤的 40 种核心活性成分见表 1。

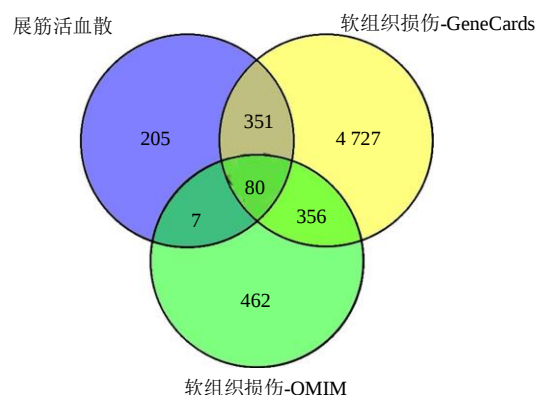


图 1 展筋活血散活性成分与软组织损伤交集靶点
Fig. 1 Intersection target of active ingredients of Zhanjin Huoxue Powder and soft tissue injury

表 1 展筋活血散治疗软组织损伤的 40 种活性成分

Table 1 40 Active components of Zhanjin Huoxue Powder in treatment of soft tissue injury

MoL ID	成分名称	相对分子质量	AlgP/IgP	DL/Lipinski	来源
MOL001040	(2R)-naringenin	272.27	2.30	0.21	没药
MOL001012	(5R,8R,9R,10R,13R,14R)-4,4,8,10,14-pentamethyl-1,2,5,6,7,9,11,12,13,15-decahydrocyclopenta[a]phenanthren-3-one	314.56	4.91	0.40	没药
MOL001126	[(5aS,8aR,9R)-8-oxo-9-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-5,5a,6,9-tetrahydroisobenzofurano[6,5-f][1,3]benzodioxol-8a-yl] acetate	456.48	2.79	0.90	没药
MOL000988	4,17(20)-(cis)-pregnadiene-3,16-dione, pregnadiene-3,16-dione	326.52	4.20	0.48	没药
MOL001128	7-O-methylaloesresin A	554.59	1.57	0.82	没药
MOL001002	ellagic acid	302.20	1.48	0.43	没药
MOL001125	erlangerin B	454.51	3.42	0.88	没药
MOL001127	erlangerin D	456.48	2.79	0.90	没药
MOL001130	fellavine	518.56	1.70	0.84	没药
MOL001004	pelargonidin	271.26	1.93	0.21	没药
MOL000490	petunidin	317.29	1.65	0.31	没药
MOL001131	phellamurin_qt	356.40	3.61	0.39	没药
	azelaic acid	188.22	1.49	Yes; 0 violation	当归
	brefeldin A	280.36	1.86	Yes; 0 violation	当归
MOL008288	coniferyl ferulate	356.40	3.64	0.39	当归
	sebacic acid	202.25	1.88	Yes; 0 violation	当归
MOL008842	chenodeoxycholic acid	392.64	3.99	0.69	牛黄
MOL000390	daidzein	254.25	2.33	0.19	乳香
MOL001279	isoincense	322.54	3.61	0.30	乳香
	dracorhodin	266.29	3.18	Yes; 0 violation	血竭

表 1 (续)

MoL ID	成分名称	相对分子质量	AlgP/IgP	DL/Lipinski	来源
MOL001279	nordracorhodin	252.26	2.85	Yes; 0 violation	血竭
MOL005318	dianthramine	289.26	2.05	0.20	人参
MOL005321	frutinone A	264.24	2.70	0.34	人参
MOL000787	fumarine	353.40	2.95	0.83	人参
	ginsenosol	222.37	3.65	Yes; 0 violation	人参
MOL005384	suchilactone	368.41	3.73	0.56	人参
MOL005356	girinimbin	263.36	4.60	0.31	人参
MOL003648	inermin	306.54	4.97	0.22	人参
MOL000422	kaempferol	286.25	1.77	0.24	人参
	neointermedeol	222.37	3.78	Yes; 0 violation	人参
MOL005305	nepetin	316.28	2.05	0.31	人参
	octanal	128.21	2.42	Yes; 0 violation	人参
	panasinsanol A	222.37	3.70	Yes; 0 violation	人参
	panasinsanol B	222.37	3.70	Yes; 0 violation	人参
	pandamine	552.70	3.38	Yes; 0 violation	人参
	protopanaxatriol	476.70	4.93	Yes; 1 violation; MLOGP>4.15	人参
MOL000098	quercetin	302.25	1.50	0.28	三七
MOL011400	ginsenoside Rf	801.14	1.13	0.24	三七
MOL005344	ginsenoside Rh2	622.98	4.04	0.56	三七
MOL001792	liquiritigenin	256.27	2.57	0.18	三七

2.3 展筋活血散治疗软组织损伤“核心成分 - 靶点”网络图

构建展筋活血散 40 种核心活性成分和 80 个治疗软组织损伤核心靶标的网络图，见图 2。其中人参涉及活性成分最多，如人参皂苷 Rh2、石竹胺、人参萜醇 A、人参皂苷 Rf、原人参三醇；来源于没药的有黄柏苷、鞣花酸；来源于当归的阿魏酸松柏酯和布雷非德菌素 A 等；来源于三七的甘草素等；来源于血竭的血竭素、去甲血竭素；来源于乳香的 大豆黄素、氧化因香酚；来源于牛黄的鹅去氧胆酸。40 种活性成分对应 degree 值较高的靶点有前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、TNF、IL-6、Akt1、ESR1 和血管内皮生长因子 A (VEGFA) 等。

2.4 核心靶点 PPI 网络图

绘制展筋活血散治疗软组织损伤的 80 个核心靶标的 PPI 网络图，见图 3A。随后采用 R 软件对 80 个核心靶标的 degree 值进行统计，采用条形图展示 degree 值较高的前 30 个靶点，见图 3B。PPI 图中越接近中心的靶点与其他靶点关联越密切，在对应条形图中的 degree 值越高，在展筋活血散治疗软

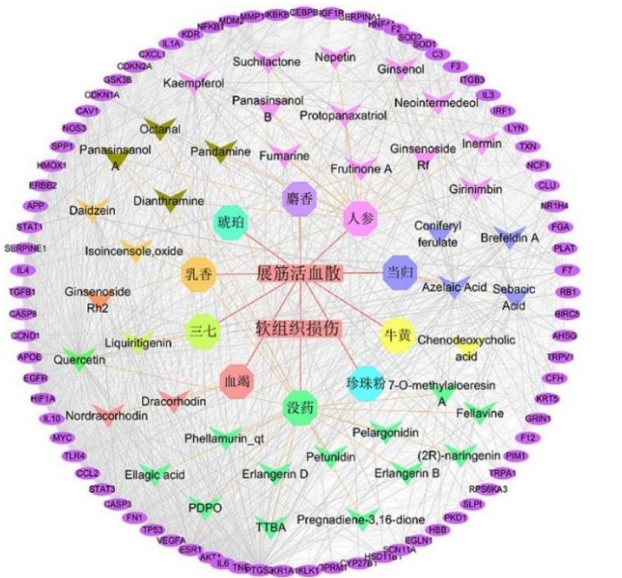


图 2 展筋活血散治疗软组织损伤的“核心成分 - 靶点”网络图

Fig. 2 “Core component-target” network diagram of Zhanjin Huoxue Powder in treatment of soft tissue injury

组织损伤中越重要。展筋活血散治疗软组织损伤主要的靶点有 IL-6 (degree=65)、TNF (degree=64)、

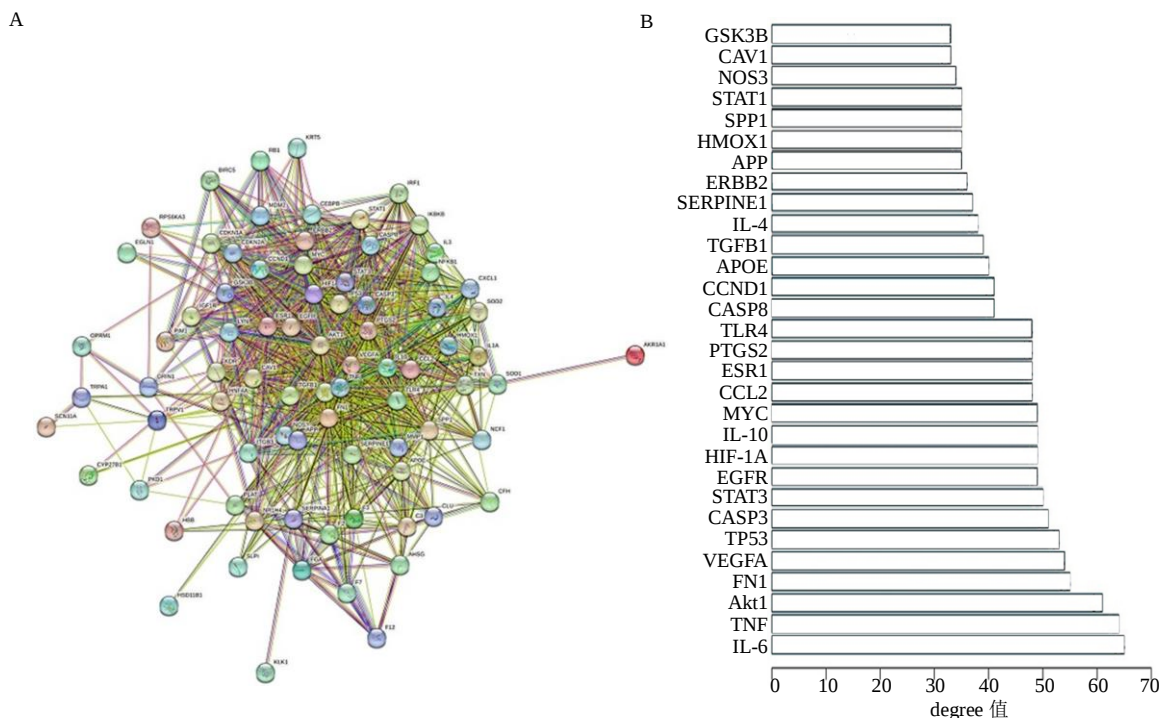


图 3 展筋活血散治疗软组织损伤核心靶点 PPI 图 (A) 和 degree 值条形图 (B)

Fig. 3 PPI diagram (A) and degree bar diagram (B) of the core target of Zhanjin Huoxue Powder in treatment of soft tissue injury

Akt1 (degree=61)、纤连蛋白 1 (FN1, degree=55)、VEGFA (degree=54)、癌基因 TP53 (degree=53)、CASP3 (degree=51) 和信号转导及转录激活因子 3 (STAT3, degree=50) 等。

2.5 GO 和 KEGG 富集结果

将展筋活血散治疗软组织损伤的 80 个核心靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析。GO 富集结果条形图见图 4A, 展筋活血散治疗软组织损伤通过调控对急性炎症反应 (acute inflammatory response)、对脂多糖的反应 (response to lipopolysaccharide)、活性氧的代谢过程 (reactive oxygen species metabolic process) 等 BP; 血小板 α 分子 (platelet alpha granule)、内质网腔 (endoplasmic reticulum lumen) 和血液微粒 (blood microparticle) 等 CC; 细胞因子受体结合 (cytokine receptor binding)、细胞因子活性 (cytokine activity) 和生长因子受体结合 (growth factor receptor binding) 等 MF。展筋活血散治疗软组织损伤主要通过调控缺氧诱导因子 1 (HIF-1) 信号通路、磷脂酰肌醇-3-激酶/Akt (PI3K/Akt) 信号通路、IL-17 信号通路和 TNF 信号通路等, 见图 4B。在 HIF-1 信号通路中, Toll 样受体 4 (TLR4) 调控下游的核因子- κ B (NF- κ B) 及 HIF-1A, 进而调控血

管新生相关的因子 VEGFA、NOS3 和血红素加氧酶 1 (HMOX1)。在 TNF 信号通路中, TNF 调控下游 NF- κ B 和核因子 κ B 激酶亚基 β 抑制因子 (IKKBK), 进而调控 CASP8 和 CASP3 参与细胞凋亡; 调控 IL-6、TNF 和 PTGS2 参与免疫炎症。

2.6 展筋活血散治疗软组织损伤的“核心成分-靶点-通路”网络图

如图 5 所示, 构建展筋活血散 40 种活性成分、软组织损伤的 48 个靶点以及前 15 条通路的网络图。来源于人参和三七的皂苷类成分和山柰酚等主要调控免疫炎症因子 IL-4、TNF、PTGS2, 血管新生因子 VEGFA 和 HMOX1, 凋亡因子 CASP3, 参与 HIF-1、PI3K/Akt、IL-17 和 TNF 信号通路^[7-8]。来源于没药的黄柏苷、鞣花酸等靶向免疫炎症因子 IL-6、IL-10、TNF、PTGS2, 血管新生因子 VEGFA、NOS3 和 HMOX1, 凋亡因子 CASP3、CASP8, 激素调控因子 ESR1, 参与 HIF-1、IL-17、TNF、MAPK 和甲状腺激素信号通路^[9]。来源于当归的阿魏酸松柏酯和布雷非德菌素 A 等成分靶向免疫炎症因子 IL-6、IL-3、TLR4、PTGS2, 血管新生因子 VEGFA, 激素调控因子 ESR1, 参与 HIF-1、PI3K/AKT 和甲状腺激素信号通路^[10]。乳香中的大豆黄素靶向免疫

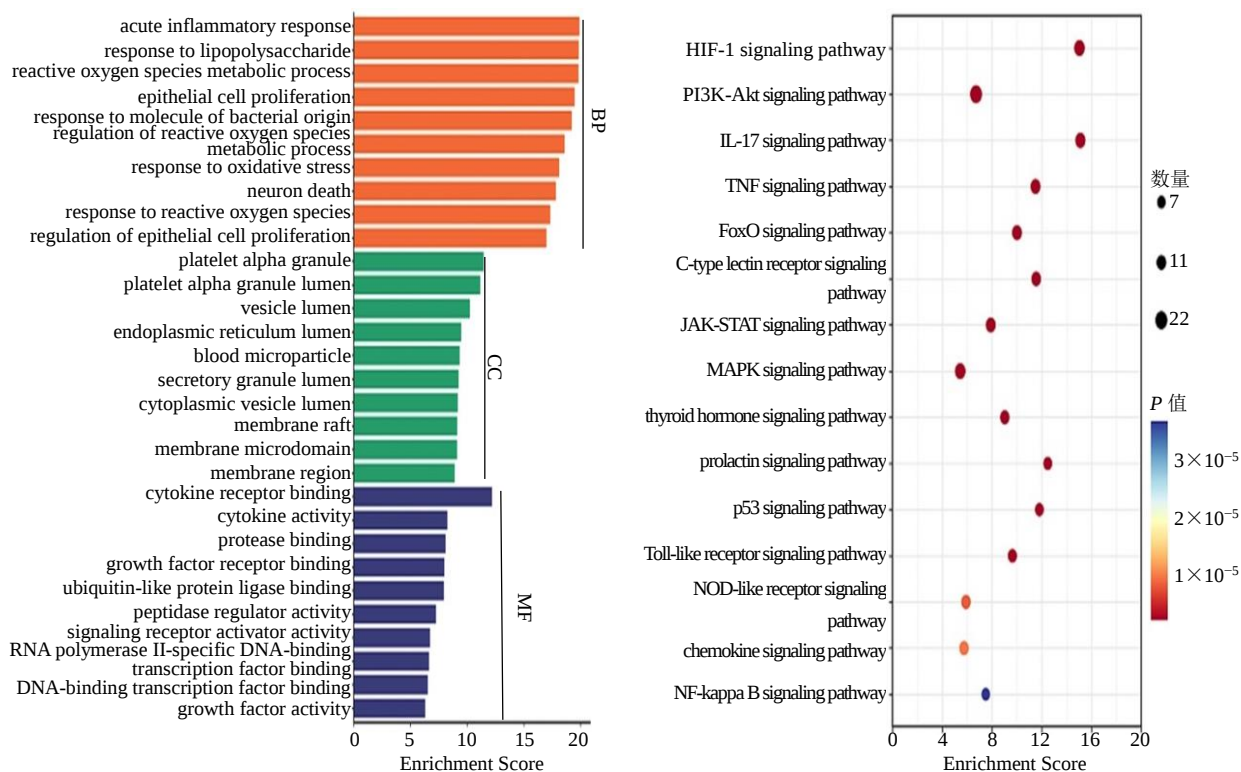


图 4 GO 富集条形图 (A) 和 KEGG 富集气泡图 (B)

Fig. 4 GO enrichment bar chart (A) and KEGG enrichment bubble chart (B)

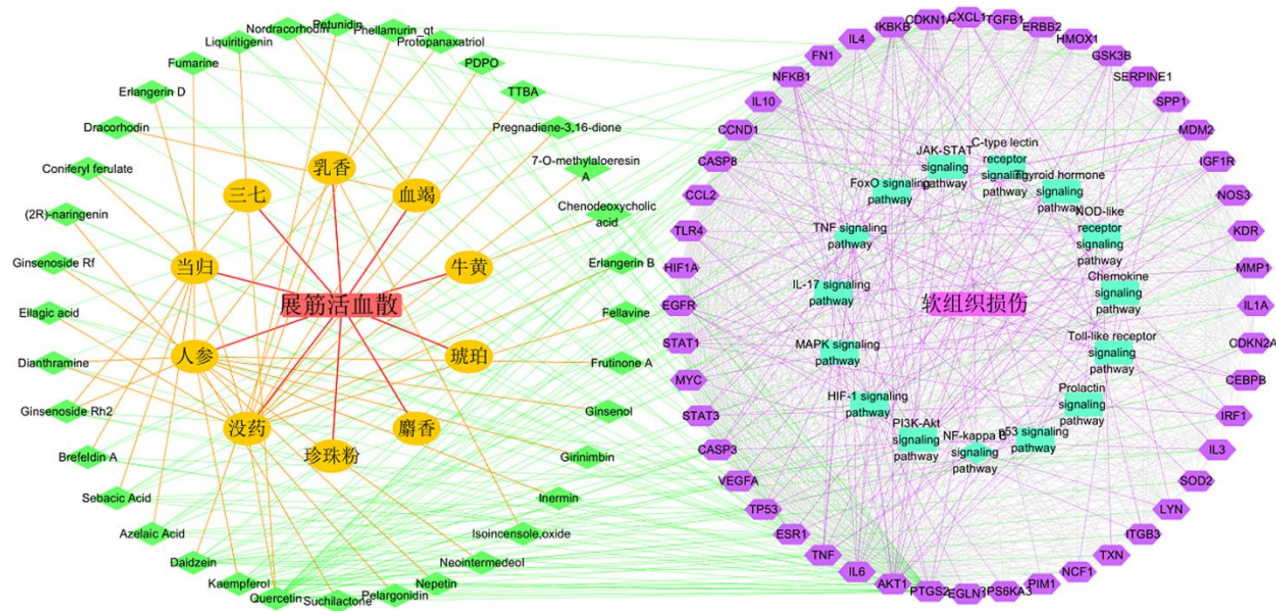


图 5 展筋活血散治疗软组织损伤活性成分、靶点和通路网络图

Fig. 5 The network diagram of active ingredients, targets, and pathways of Zhanjin Huoxue Powder in treatment of soft tissue injury

炎症因子 IL-6、IL-4、TNF、PTGS2, 凋亡因子 CASP3, 血管新生因子 VEGFA 和 NOS3, 激素调控

因子 ESR1, 参与 HIF-1、IL-17、TNF 和甲状腺激素信号通路。来源于血竭的血竭素和去甲血竭素靶

向 PTGS2、基质金属蛋白酶 1 (MMP1) 和 MDM2 参与 IL-17 和 PI3K/Akt 信号通路。

2.7 展筋活血散治疗软组织损伤核心成分与靶点分子对接结果

展筋活血散治疗软组织损伤“成分-靶点-通路”网络图中的核心成分和靶点进行分子对接见图 6A, 对接结合能均小于 -5.00 kcal/mol ($1 \text{ cal}=4.2 \text{ J}$), 表示展筋活血散中的活性成分与软组织损伤的靶点易结合。其中没药中的黄柏苷成分与 PTGS2 的结合

能低至 -8.859 kcal/mol ; 当归中的阿魏酸松柏酯与 ESR1 的结合能为 -8.233 kcal/mol ; 人参和三七共有成分人参皂苷 Rh₂ 与 PTGS2 的结合能为 -8.005 kcal/mol 。在黄柏苷与 PTGS2 对接图中, 黄柏苷末端的羟基与 Phe210 通过“受体主干”作用; 在阿魏酸松柏酯与 ESR1 对接图中, 阿魏酸松柏酯与 GluA353 和 HisA524 间接作用; 人参皂苷 Rh₂ 与 PTGS2 对接图中, 人参皂苷 Rh₂ 糖基上的羟基分别与 Lys215 和 His214 通过“配体侧链”作用(图 6B)。

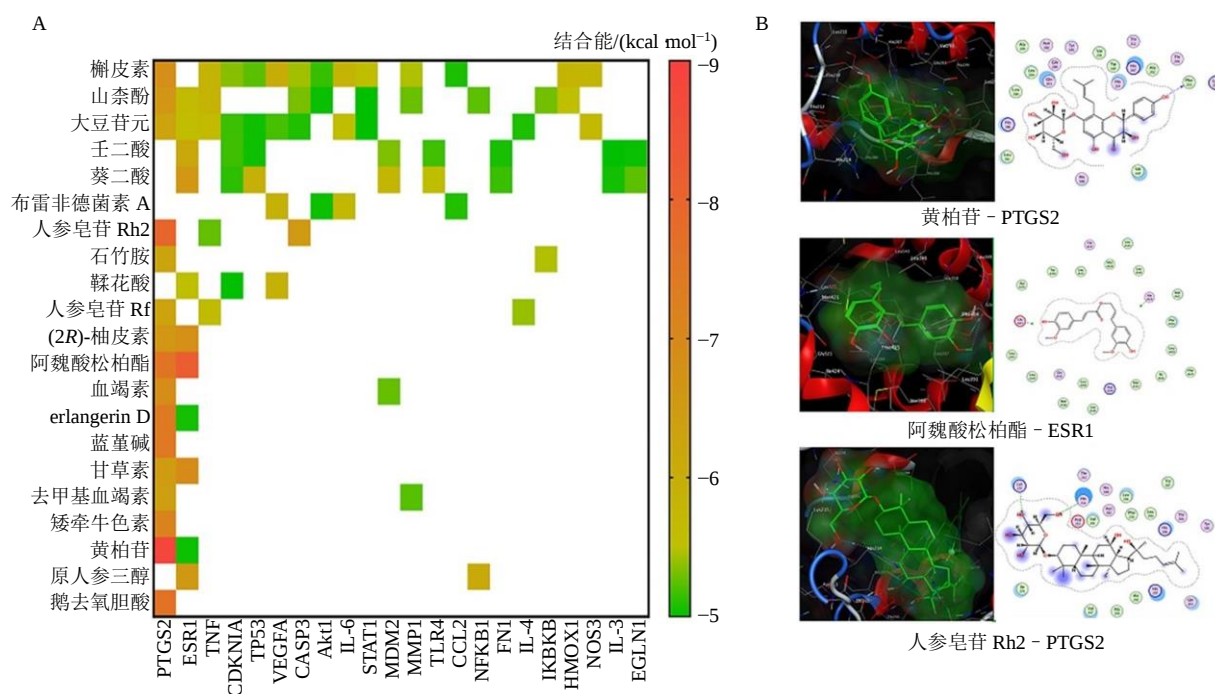


图 6 分子对接热图 (A) 及分子对接结构图 (B)

Fig. 6 Molecular docking heat diagram (A) and molecular docking structure diagram (B)

3 讨论

本研究运用网络药理学^[11-12]结合分子对接技术探索展筋活血散治疗软组织损伤的分子调控机制, 结果发现展筋活血散中 40 种活性成分(人参皂苷 Rh₂、血竭素、大豆黄素、槲皮素、山柰酚、黄柏苷和阿魏酸松柏酯等)靶向的 48 个靶点参与 15 条通路发挥治疗软组织损伤的作用。近来研究发现, 人参皂苷可以通过抑制人关节软骨细胞凋亡来改善踝关节周围组织的急性损伤和踝关节结构损伤^[13]。槲皮素缓解了半月板损伤引起的大鼠膝关节炎, 促进了软骨细胞的增殖和胶原蛋白的表达^[14]。还有研究证实应用于急性软组织损伤的神效散中血竭素和三七皂苷 R₁ 成分在离体皮肤中均有较高的累积渗透量和渗透速率^[15]。在本研究中, 发现展筋活血散

中治疗软组织损伤活性成分有三七和人参共有的人参皂苷 Rh₂; 三七和没药共有的槲皮素; 人参与没药共有的人参萜醇 A; 人参中的人参皂苷 Rf 和原人参三醇; 没药中黄柏苷和鞣花酸; 血竭中血竭素; 当归中阿魏酸松柏酯; 乳香中大豆黄素; 以及牛黄中的鹅去氧胆酸。

展筋活血散可能通过调控免疫炎症、血管新生、凋亡和激素相关因子发挥治疗软组织损伤的作用。先前研究发现由血竭和三七等组成的竭七胶囊通过改善炎症因子 IL-1B 和 TNF- α 、血管新生因子 VEGF 和凋亡因子 CASP3 水平, 缓解损伤组织肌纤维紊乱、大量出血和水肿等症状, 从而治疗大鼠急性软组织损伤^[16-17]。由乳香、没药和当归等组成的 ZD 制剂可以缓解小鼠和马急性软组织损伤, 通过降低血

清中炎症因子 NO、IL-6、IL-1B、TNF- α 、IL-8、IL-10 和凋亡因子 CASP3 表达水平, 加快损伤组织肌纤维修复、炎症细胞消散和改善淤血程度^[18]。在本研究中, 人参和三七的皂苷类成分、山柰酚; 没药中的黄柏苷、鞣花酸; 当归中的阿魏酸松柏酯; 以及乳香中的大豆黄素可调控免疫炎症因子 IL-3、IL-4、IL-6、IL-10、TLR4、TNF、PTGS2 和血管新生因子 VEGFA、NOS3 和 HMOX1。人参和三七的皂苷类成分、山柰酚; 没药中的黄柏苷、鞣花酸; 以及乳香中的大豆黄素可调控凋亡因子 CASP3 和 CASP8。此外, 没药中的黄柏苷、鞣花酸; 当归中的阿魏酸松柏酯以及乳香中的大豆黄素可调控激素调控因子 ESR1。表明展筋活血散中的活性成分可以靶向免疫炎症因子 IL-3、IL-4、IL-6、IL-10、TLR4、TNF、PTGS2; 血管新生因子 VEGFA、NOS3 和 HMOX1; 凋亡因子 CASP3、CASP8; 激素调控因子 ESR1 参与治疗软组织损伤的治疗。

展筋活血散调控 HIF-1、PI3K/Akt、IL-17、TNF 和甲状腺激素信号通路可能与软组织损伤治疗相关。有研究发现人肝细胞生长因子修饰的人脂肪间充质干细胞可以通过增加伤口组织中的新生血管形成来显著促进糖尿病小鼠伤口愈合, 其机制可能与激活 PI3K/Akt 信号通路增加伤口中 NOS3 的表达有关^[19]。羟基红花黄素同样通过降低 IL-6、IL-1B、TNF- α 、VCAM-1 和 ICAM-1 水平, 抑制了肌肉组织中 NF- κ B 的活化和 p38MAPK 的磷酸化, 从而治疗大鼠急性软组织损伤^[20]。先天淋巴样细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞和 CD4 T 细胞中 IL-17 的表达也可能与老年软组织损伤相关^[21]。还有临床研究发现雌激素等与女性软组织损伤、软组织松弛和肌肉损伤等相关^[22]。在本研究中, 人参和三七的皂苷类成分、山柰酚, 没药中的黄柏苷、鞣花酸, 当归中的阿魏酸松柏酯, 乳香中的大豆黄素, 以及血竭的血竭素和去甲血竭素等可调控 HIF-1、PI3K/Akt、IL-17 和 TNF 信号通路; 没药中的黄柏苷、鞣花酸, 当归中的阿魏酸松柏酯, 以及乳香中的大豆黄素可参与甲状腺激素信号通路。

本研究结合网络药理学和分子对接技术初步探索展筋活血散治疗软组织损伤的分子机制, 涉及 40 种活性成分(人参皂苷 Rh₂、血竭素、大豆黄素、槲皮素、山柰酚、黄柏苷和阿魏酸松柏酯等), 靶向 48 个靶点(免疫炎症因子 IL-3、IL-4、IL-6、TLR4、TNF、PTGS2, 血管新生因子 VEGFA、NOS3 和

HMOX1, 凋亡因子 CASP3、CASP8, 激素调控因子 ESR1 等)及参与 15 条通路(HIF-1、PI3K/Akt、IL-17、TNF 和甲状腺激素信号通路等)。总之, 本研究为展筋活血散治疗软组织损伤的机制探索和临床应用提供指导。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Malliaropoulos N, Ghrairi M, Zerguini Y, et al. Soft tissue injuries are still a challenge in musculoskeletal sports and exercise medicine [J]. *Br J Sports Med*, 2016, 50(24): 1487.
- [2] Zhu W H, Shen Y, Xiao Y, et al. Efficacy and safety of Wuhu oral liquid in treating acute soft tissue injuries: A multicenter, randomized, double-blind, double-dummy, parallel-controlled trial [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1335182.
- [3] 梁杰林. 为老年性软组织损伤所致疼痛患者联用展筋活血散和九清温通按摩膏进行治疗的效果分析 [J]. 当代医药论丛, 2018, 16(4): 210-211.
- [4] 孙亚宁, 唐钰超, 赵海涛, 等. 展筋活血散治疗足踝部急性软组织损伤临床分析 [J]. 中国医药导刊, 2017, 19(12): 1340-1343.
- [5] 韩学哲, 崔刚, 刘传镐, 等. 展筋活血散对大鼠软组织损伤的影响 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(6): 151-154.
- [6] 杨瑞瑞, 李雪, 乔蓉霞, 等. 展筋活血散质量标准研究 [J]. 中国药品标准, 2013, 14(4): 251-255.
- [7] Ghafouri-Fard S, Balaei N, Shoorei H, et al. The effects of ginsenosides on PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Mol Biol Rep*, 2022, 49(7): 6701-6716.
- [8] Liu M N, Ye X W, Zhang S Y, et al. Homotherapy for heteropathy of Alzheimer's disease and anemia through reducing the expression of toll-like receptor and TNF by steamed *Panax notoginseng* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 165: 115075.
- [9] Su S L, Duan J N, Chen T, et al. Corrigendum: Frankincense and myrrh suppress inflammation via regulation of the metabolic profiling and the MAPK signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15597.
- [10] Yeh T S, Hsu C C, Yang S C, et al. *Angelica sinensis* promotes myotube hypertrophy through the PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2014, 14: 144.
- [11] 孙宝迪, 夏斌, 俞燕露, 等. 基于网络药理学和分子对接技术清咳平喘颗粒治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19) [J]. 药物评价研究, 2023, 46(10): 2116-2125.
- [12] 廖韵诺, 赵凯丽, 郭宏伟. 中药网络药理学的研究应用

- 与挑战 [J]. 中草药, 2024, 55(12): 4204-4213.
- [13] Xu Z Q, Li X, Shen G D, *et al.* The protective effect of ginsenoside Rg1 on apoptosis in human ankle joint traumatic arthritis chondrocytes [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 6798377.
- [14] Lv S J, Wang X J, Jin S J, *et al.* Quercetin mediates TSC2-RHEB-mTOR pathway to regulate chondrocytes autophagy in knee osteoarthritis [J]. *Gene*, 2022, 820: 146209.
- [15] 王爱国, 谷福顺, 郑昆仑, 等. 神效散巴布剂的体外透皮吸收研究 [J]. 现代药物与临床, 2021, 36(9): 1812-1816.
- [16] 孙莹. 竭七胶囊对急性软组织损伤大鼠 IL-1 β 、SOD 含量及 caspase-3 表达的影响 [D]. 成都: 成都体育学院, 2021.
- [17] 夏帆. 竭七胶囊对急性软组织损伤大鼠 TNF- α 、VEGF 和组织形态学的影响 [D]. 成都: 成都体育学院, 2021.
- [18] 高鑫. ZD 制剂对小鼠软组织损伤修复及对 RAW264.7 炎症因子的影响 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016.
- [19] 曹涛, 肖丹, 计鹏, 等. 肝细胞生长因子修饰的人脂肪间充质干细胞外泌体对糖尿病小鼠全层皮肤缺损的作用 [J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2022, 38(11): 1004-1013.
- [20] Dong F, Xue C J, Wang Y, *et al.* Hydroxysafflor yellow A attenuates the expression of inflammatory cytokines in acute soft tissue injury [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40584.
- [21] Faust HJ, Zhang H, Han J, *et al.* IL-17 and immunologically induced senescence regulate response to injury in osteoarthritis [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(10): 5493-5507.
- [22] Konopka J A, Hsue L J, Dragoo J L. Effect of oral contraceptives on soft tissue injury risk, soft tissue laxity, and muscle strength: A systematic review of the literature [J]. *Orthop J Sports Med*, 2019, 7(3): 2325967119831061.

【责任编辑 高源】